СКАНИРУЮЩАЯ КАПИЛЛЯРНАЯ МИКРОСКОПИЯ

SCANNING CAPILLARY MICROSCOPY

И.Яминский* / yaminsky@nanoscopy.ru
I.Yaminsky*

Сканирующая ион-проводящая микроскопия постепенно эволюционирует в сканирующую капиллярную микроскопию, в которой зонд-капилляр играет много различных функций – биосенсора, электрохимического электрода, тест-системы ионов металлов, средства доставки биомакромолекул.

Scanning ion conductance microscopy has been evolving into scanning capillary microscopy in which the probe-capillary plays a lot of different functions as biosensor, electrochemical electrode, test system for metal ions, the means for delivery of biomacromolecules.

3 февраля 1989 года в журнале "Science" вышла статья Пола Хансмы с соавторами "Сканирующий ион-проводящий микроскоп" [1]. За два дня до этого Хансма подал заявку на одноименный патент [2]. Сканирующий ион-проводящий микроскоп (рис.1.) стал еще одной удачной разновидностью приборов в семействе сканирующих зондовых микроскопов.

Сканирующий ион-проводящий микроскоп позволяет наблюдать объекты в жидкости (электролите) с микронным и нанометровым пространственным разрешением. Если сканирующий туннельный микроскоп работает с проводниками, то объекты ион-проводящего микроскопа могут быть как проводниками, так и диэлектриками. При сканировании в ион-проводящем микроскопе, в отличие от атомно-силового микроскопа, силовое воздействие на образец практически отсутствует.

Существенный прогресс в развитии и применении сканирующей ион-проводящей микроскопии произошел за последние десять-пятнадцать лет в связи с разработкой модуляционных методик [3-6] и особенно прыжкового режима ("хоппинг-моды", в английской терминологии – hopping mode) благодаря работам Юрия Корчева и соавторов [7, 8]. Именно при применении "хоппинг-моды" удалось в полной мере реализовать преимущества сканирующей ион-проводящей микроскопии. За счет контролируемого перемещения иглы по вертикали к образцу на расстояние в несколько микрон стало возможным детальное изучение шероховатых объектов, к которым относятся многие биологические системы. Применение перспективных моделей сигнальных процессоров и FPGA-микроконтроллеров в сочетании с быстродействующими операционными усилителями, аналого-цифровыми и цифро-аналоговыми преобразователями позволило достичь деликатного сканирования шероховатых клеток, волокон и многих других биоструктур на высокой скорости, не вызывая их деформации (рис.2).

Рис.1. Принцип работы сканирующего ион-проводящего микроскопа

Fig.1. Principle of operation of the scanning ion conductance microscope

Рис.2. Сравнение режимов непрерывного сканирования и "хоппинг-моды" в ион-проводящей микроскопии. При непрерывном сканировании зонд сталкивается с образцом (а, с), а при использовании "хоппинг-моды" столкновения удастся избежать (b, d), так как зонд поднимается над объектом. Публикуется с разрешения редакции журнала Nanomedicine (Future Medicine Ltd.)

Fig.2. Comparison of continuous scanning and "hopping" modes of the ion conductance microscopy. In continuous scanning mode probe collides with a sample (a, c), and in "hopping" mode collision is avoided (b, d), as the probe rises above the sample. Published with the permission of the "Nanomedicine" journal (Future Medicine Ltd.)

Зонд в виде кварцевого или стеклянного капилляра по сравнению с традиционным кантилевером имеет меньший угол схождения в вершине, а значит, и эффект уширения изображения про-

Рис.3. Капилляр с семью каналами. Выходные отверстия каналов находятся на расстоянии единиц или десятков нанометра (в зависимости от условий вытяжки)

Fig.3. Seven-channel capillary. The outlets of the channels are at a distance of units or tens of nanometers (depending on the extraction conditions)

3 February 1989 the journal "Science" published an article by Paul Hansma and co-authors "Scanning Ion Conductance Microscope" [1]. Two days before this Hansma has applied for a patent with the same name [2]. Scanning ion conductance microscope (Fig.1.) became another successful type of devices in the family of scanning probe microscopes.

Scanning ion conductance microscope allows to observe objects in a liquid (electrolyte) with micron and nanometer spatial

resolution. Unlike a scanning tunneling microscope that measure only the conductors, the ion conductance microscope can be used for both conductors and insulators. During scanning in an ion conductance microscope, unlike the atomic force microscope, a force impact on the sample is practically absent.

Significant progress in the development and application of scanning ion conductance microscopy has been achieved in the last ten to fifteen years in connection

with the development of modulation techniques [3-6] and especially of hopping mode thanks to the researches of Yuri Korchev and co-authors [7, 8]. Exactly the hopping mode allows to fully realize the benefits of scanning ion conductance microscopy. Due to the controlled movement of the needle vertically to the sample at a distance of a few microns it has become possible to study rough objects, which include many biological systems. The use of advanced signal processors and

Рис.4. 3D-изображение поверхности эпителиальной клетки почки свиньи, полученное методом сканирующей ион-проводящей микроскопии. Синим схематично представлен капилляр [9]

Fig.4. 3D image of the surface of pig kidney epithelial cells, obtained by scanning ion conductance microscopy. The capillary is schematically shown in blue [9]

является в ион-проводящей микроскопии в существенно меньшей степени.

Возможности сканирующей ион-проводящей микроскопии значительно шире, чем просто наблюдение рельефа поверхности шероховатых

объектов с низкой механической жесткостью. Использование многоканальных капилляров (рис.3) в качестве зонда позволяет проводить мультипараметрический анализ клеток. Химическая модификация одного или нескольких каналов капилляра превращает зонд в электрохимический наносенсор [10]. Капилляры с двумя или несколькими каналами дают также возможность реализовать направленный массоперенос веществ, биомакромолекул (пептидов, белков, нуклеиновых кислот и пр.) на поверхность биообъектов или внутрь их объема.

Можно прогнозировать дальнейшее широкое применение ион-проводящего микроскопа в биомедицинских приложениях (рис.4), тестировании лекарственных средств с использованием не культуры клеток, а всего лишь одной клетки [11, 12].

Вынесенный в заголовок термин "сканирующий капиллярный микроскоп" до этого момента не использовался для данной разновидности сканирующего зондового микроскопа, однако его целесообразно ввести. Капиллярный зонд может выполнять необычайно разнообразные функции – средства доставки, биосенсора, электрохимического сенсора, измерителя pH, тест системы для обнаружения ионов металлов. Сканирующий капиллярный микроскоп удачно вписывается в семейство сканирующих зондо-

FPGA in combination with high-speed operational amplifiers, analog-to-digital and digital-to-analog converters has enabled to achieve a delicate scan of rough cells, fibers and many other biostructures at high speed without their deformation (Fig.2).

The probe in the form of quartz or a glass capillary in comparison with a conventional cantilever has a smaller convergence angle at the vertex, and hence the broadening of the image is evident in the ion conductance microscopy in significantly lesser extent.

Capabilities of scanning ion conductance microscopy are much broader than just the observation of the surface topography of rough objects with a low mechanical

rigidity. The use of multichannel capillaries (Fig.3) as a probe allows multiparametric analysis of cells. Chemical modification of one or several channels of capillary turns the probe into electrochemical nano-sensor [10]. Capillaries with two or more channels also give the opportunity for directed mass transfer of substances of bio-macromolecules (peptides, proteins, nucleic acids, etc.) on the surface of the bio-objects or inside their volume.

We can predict the future wide use of ion conductance microscopy in biomedical applications (Fig.4), testing of drugs using only one cell instead of cell culture [11, 12].

The term "scanning capillary microscopy" used for the headline

is new for this type of scanning probe microscopy, however, it is advisable to use it. Capillary probe can perform extremely diverse functions of means of delivery, biosensor, electrochemical sensor, pH meter, test system for the detection of metal ions. Scanning capillary microscope fits well in the family of scanning probe microscopes, SPM, where the central letter in the acronym can refer to the type of probe. Thus, scanning capillary microscopy, SCM, occupies a unique place among the methods of probe microscopy.

The project is supported by RFBR (project No. 15-04-07678) and RNA (project 02.G25.31.0135). Thanks to Nanotechnology YICC for the provision of equipment. ■

вых микроскопов – СЗМ, где центральная буква в аббревиатуре может обозначать тип зонда. Таким образом, сканирующая капиллярная микроскопия – СКМ – занимает свое уникальное место в методах зондовой микроскопии.

Настоящая работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 15-04-07678) и МОН (проект 02.G25.31.0135). Благодарность ЦМИТ "Нанотехнологии" за предоставление оборудования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hansma P.K., Drake B., Marti O., Gould S.A. and Prater C.B. Science 243, 641 (1989).
2. Hansma P., Drake B. Scanning Ion Conductance Microscope. United States Patent 4924091, Aug. 30, 1994.
3. Gorelik J., Shevchuk A.I., Frolenkov G.I., Diakonov I.A., Lab M.J., Kros C.J., Richardson G.P., Vodyanoy I., Edwards C.R.W., Klenerman D. et al. Dynamic assembly of surface structures in living cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2003, 100, 5819–5822.
4. Gorelik J., Zhang Y., Shevchuk A.I., Frolenkov G.I., Sánchez D., Lab M.J., Vodyanoy I., Edwards C.R.W., Klenerman D., Korchev Y.E. The use of scanning ion conductance microscopy to image A6 cells. Mol. Cell Endocrinol. 2004, 217, 101–108.
5. Zhang Y., Gorelik J., Sanchez D., Shevchuk A., Lab M., Vodyanoy I., Klenerman D., Edwards C., Korchev Y. Scanning ion conductance microscopy reveals how a functional renal epithelial monolayer maintains its integrity. Kidney Int. 2005, 68, 1071–1077.
6. Mann S.A., Hoffmann G., Hengstenberg A., Schuhmann W., Dietzel I.D. Pulse-mode scanning ion conductance microscopy – A method to investigate cultured hippocampal cells. J. Neurosci. Methods 2002, 116, 113–117.
7. Novak P., Li C., Shevchuk A.I., Stepanyan R., Caldwell M., Hughes S., Smart T.G., Gorelik J., Ostanin V.P., Lab M.J. et al. Nanoscale live-cell imaging using hopping probe ion conductance microscopy. Nat. Methods 2009, 6, 279–281.
8. Shevchuk A.I., Novak P., Takahashi Y., Clark R., Miragoli M., Babakinedjad B., Gorelik J., Korchev Y., Klenerman D. Realizing the biological and biomedical potential of nanoscale imaging using pipette probe. Nanomedicine, Future Medicine Ltd, 2011, 6(3), 565–575.
9. Actis P., Tokar S., Clausmeyer J., Babakinedjad B., Mikhaleva S., Cornut R., Takahashi Y., Cordoba A.L., Novak P., Shevchuk A.I., Dougan J.A., Kazarian S.G., Gorelik P.V., Erofeev A.S., Yaminsky I.V., Unwin P.R., Schuhmann W., Klenerman D., Rusakov D.A., Sviderskaya E.V. and Korchev Y.E. Electrochemical Nanoprobes for Single-Cell Analysis // ACS Nano, 8(1), 875–884 (2014).
10. Bhargava A., Lin X., Novak P., Mehta K., Korchev Y., Delmar M., Gorelik J. Super Resolution Scanning Patch Clamp Reveals Clustering of Functional Ion Channels in Adult Ventricular Myocyte. Circulation Research, 2013, 112, 1112–1120.
11. Макарова Е., Багров Д., Горелкин П., Ерофеев А., Яминский И. Наблюдение эритроцитов с помощью атомно-силовой и сканирующей ион-проводящей микроскопии // Наноиндустрия. 2015. № 2 (56). С. 42–47.
12. Макарова Е.С., Багров Д.В., Горелкин П.В., Ерофеев А.С., Яминский И.В. Визуализация эритроцитов методами атомно-силовой и сканирующей ион-проводящей микроскопии // Медицина и высокие технологии. 2015. № 2. С. 42–45.

Статьи Вернера В.Д., Кузнецова Е.В., Саурова А.Н.: "Закону Мура 50 лет: масштабирование элементов ИС", "Закону Мура 50 лет: развитие микроэлектроники", "Закону Мура 50 лет: завершение или изменение?", опубликованные в 2015 году в номерах 4, 5 и 6 соответственно, подготовлены при поддержке Минобрнауки России в рамках Государственного задания (Проект № 3561).